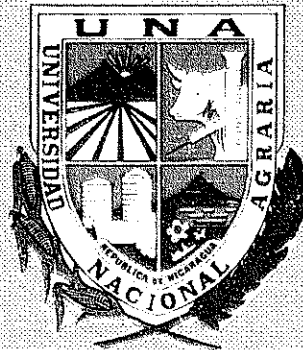


UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE RECURSOS GENETICOS NICARAGÜENSES
(REGEN)



TRABAJO DE DIPLOMA

INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRES TIPO
DE EMPAQUES SOBRE LA VIABILIDAD DE LA SEMILLA
DE NIM (*Azadirachta indica* A.Juss)

AUTORES:

Br. KARLA RAMIREZ ASENCIO
Br. JOSE LUIS RUBI

ASESOR:

Ing. Agr. MSc. MARVIN FORNOS REYES

MANAGUA, NICARAGUA
ENERO, 1998

DEDICATORIA

A mi madre Alicia Asencio Torres, por su comprensión durante mis años de estudios y el amor sin límites que me ha brindado.

A mis hijos Carlos Eduardo y Vivian Carolina Urbina, por el tiempo que no les brindé durante la realización de este trabajo.

A mi esposo Humberto Urbina Torres, por su apoyo y comprensión a lo largo de mi carrera.

A mi abuelita Zoila Torres, por ser muy especial.

Karla Ramírez Asencio

DEDICATORIA

A Dios mi guía espiritual.

A mi querida madre, Josefa Rubí, quien siempre ha estado a mi lado en los momentos más difíciles, brindándome su apoyo en mi vida de estudiante para lograr mis aspiraciones.

A mis hermanos Lisseth e Irvin Rubí.

A mis sobrinas Jaynee Urbina y María José Flores.

A ellos con respeto y cariño dedico el presente trabajo.

José Luis Rubí

AGRADECIMIENTO

Agradezco de manera especial a mi tío Miguel Asencio y a mi tía Socorro Flores por su gran apoyo en la culminación de mis estudios y por facilitarnos la realización de este estudio.

A mis hermanos Carolina, Vivian y Enrique Ramírez por el gran cariño que me han brindado a lo largo de mis estudios.

A todas aquellas personas que de una u otra forma manifestaron su colaboración en la realización de este trabajo.

A mi compañero de trabajo. Br. José Luis Rubí por el tiempo que le dedicó a la realización de este estudio.

Karla Ramírez Asencio

AGRADECIMIENTO

Agradezco de manera especial al Programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN), quien de manera especial nos apoyó en la realización del presente estudio.

Al asesor Ing. Agr. MSc. Marvin Fornos Reyes, que de forma esmerada puso todo sus esfuerzos para que la realización de este trabajo fuese posible.

A la Br. Patricia Reyes, por su valiosa colaboración en este trabajo.

A Carolina, Dilma y Lidia, quienes amablemente me dieron la información solicitada en la biblioteca de EPV, SAVE y REGEN, respectivamente.

A Eveling y Celia quienes prestaron parte de su tiempo para la realización del escrito computarizado, y a todas aquellas personas que de una u otra forma estuvieron involucradas en la realización de este trabajo.

José Luis Rubí

INDICE GENERAL

SECCION	Pag
Indice general	i
Indice de tablas	iii
Indice de figuras	iv
Indice de anexos	v
Resumen	vi
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1 Descripción botánica y distribución geográfica	3
2.2 Importancia	5
2.3 Uso del Nim	5
2.4 Recalcitrancia	6
2.5 Almacenamiento	7
III. MATERIALES Y METODOS	9
3.1 Localización de la plantación de nim y del experimento	9
3.2 Recolección de los frutos y procesamiento	9
3.3 Empaques	10
3.4 Condiciones ambientales	11
3.4.1 Descripción de los ambientes	12
3.5 Diseño experimental	12
3.6 Variables medidas	13
3.6.1 Viabilidad	13

3.6.2 Germinación	14
3.6.3 Humedad	15
3.7 Experimentos adicionales	15
3.7.1 Análisis comparativo de la germinación en arena fina, regada con dos tipos de agua	16
3.7.2 Prueba comparativa de la germinación en arena fina y arena gruesa	16
3.7.3 Calidad de las semillas cosechadas a las 10 y 12 semanas después de la floración	16
3.7.4 Daños mecánicos de las semillas	16
 IV. RESULTADOS	 17
4.1 Comportamiento de las variables evaluadas en los diferentes empaques y ambientes de almacenamiento	17
4.2 Experimentos adicionales	23
4.2.1 Análisis comparativo de la germinación en arena fina regada con dos tipos de agua	23
4.2.2 Análisis de germinación en arena fina y arena gruesa	23
4.2.3 Calidad de las semillas cosechadas 10 y 12 semanas después de la floración	24
4.2.4 Daños mecánicos en las semillas	25
 V. DISCUSION GENERAL	 27
 VI. CONCLUSIONES	 30
 VII. RECOMENDACIONES	 31
 VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	 32

INDICE DE TABLAS

SECCION	Pag.
1. Datos climatológicos durante el período experimental	9
2. Dimensiones de los empaques	10
3. Características de las condiciones ambientales	11
4. Descripción de los tratamientos en estudio para determinar la influencia de los empaques y las condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad de las semillas de nim	13
5. Calidad de agua de los grifos en los laboratorios de la UNA	16

INDICE DE FIGURAS

SECCION	Pag
1. Arbol de nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss)	4
2. Frutos de nim (<i>Azadirachta indica</i> A. Juss)	5
3. Tipos de empaques	11
4. Viabilidad de la semilla	14
5. Germinación de la semilla	15
6 Efecto de tres empaques (a) y siete condiciones de almacenamiento (b) sobre la viabilidad y germinación de la semilla de nim, después de 112 días, promedio total en 1994	18
7. Efecto combinado de tres tipo de empaques y siete condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad (a) y germinación (b) de la semilla de nim, en 1994	21 22
8. Porcentaje de germinación (emergencia) de las semillas de nim 20 días después de la siembra en arena fina e irrigadas con agua fresca y agua reposada por 48 horas respectivamente, en 1994	23
9. Análisis de germinación de las semillas de nim en arena fina y gruesa, en 1993 y 1994	24
10 Calidad de las semillas cosechadas a las 10 y 12 semanas después de la floración	25
11 Viabilidad, plántulas normales y contenido de humedad de las semillas 7 días después de la cosecha en Sábana Grande (A) y los Brasiles (B), en 1994	26

INDICE DE ANEXOS

SECCION	Pag.
1. Comportamiento de la semilla de nim almacenada en tres tipos de empaques y siete condiciones de almacenamiento, en 1994	36
2. Efectos de tres tipos de empaques y siete condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad, germinación y humedad de las semillas de nim almacenadas durante 112 días, en 1994	37
3. Calidad de las semillas cosechadas a las 10 y 12 semanas después de la floración	38
4. Daños mecánicos en las semillas	39

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN), adscrito a la Universidad Nacional Agraria (UNA), con los objetivos de determinar el mejor empaque y las mejores condiciones de almacenamiento que permitieran prolongar el período de viabilidad de la semilla de nim. La semilla fue secada en condiciones ambientales y posteriormente envasada en bolsas de algodón, bolsas plásticas protegidas con papel craft y bolsas polilaminadas y almacenadas en siete condiciones ambientales. Las pruebas de viabilidad con Tetrazolio, germinación y contenido de humedad fueron realizadas en los 1, 7 y 14 días después de la cosecha; posteriormente se hicieron cada 14 días. Todos los datos en porcentajes fueron transformados a arcoseno y analizados como un diseño bifactorial usando análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba de separación de medias según Tukey al 5% de significancia. Después de 112 días de almacenamiento, el mejor empaque y la mejor condición de almacenamiento fueron las bolsas de algodón y el cuarto de secado, con temperatura de 15-18 °C y humedad relativa de 18%. El período de viabilidad más corto fue obtenido utilizando bolsas polilaminadas almacenadas a 5 °C. Obteniéndose diferencia significativa entre empaques y almacenamientos.

En el presente estudio también se realizó varios ensayos preliminares para mejorar la metodología de las pruebas a realizar. De esta manera, el porcentaje de germinación más alto se obtuvo en arena fina, en semillas regadas con agua reposada durante 48 horas y en semillas colectadas 12 semanas después de la floración. Finalmente, la germinación más baja fue obtenida en semillas con el endocarpio sano que en aquellas con algún tipo de daño mecánico, probablemente debido a dormancia.

I.- INTRODUCCION

La semilla es la unidad biológica básica altamente organizada, a través de la cual las diferentes especies se preservan, dispersan y mantienen su existencia. Está equipada con mecanismos estructurales y fisiológicos para cumplir su rol como unidad de dispersión en el tiempo y el espacio (Gómez, 1990).

Las semillas de una gran cantidad de especies pueden permanecer viables durante largos periodos a bajos contenidos de humedad y bajas temperaturas. Probablemente estas semillas viables nunca están completamente inactivas y sus procesos vitales continúan hasta que las condiciones son favorables para la germinación (Boswell, 1961).

Desde el punto de vista de la preservación de germoplasma hay dos categorías de semillas: (a) ortodoxas, que pueden ser almacenadas durante largos periodos a temperaturas menores de -18 °C y contenidos de humedad de 5-7% sin presentar deterioro significativo de la viabilidad (Roberts y Ellis, citados por King y Roberts, 1979). (b) semillas recalcitrantes, que mueren rápidamente si su contenido de humedad es reducido (Chin, 1978).

De hecho, las semillas recalcitrantes aún presentan una serie de problemas en el proceso de almacenamiento a largo plazo, lo que es vital para la preservación de germoplasma. Además, para muchas especies recalcitrantes no existe información de cómo determinar la calidad de sus semillas, por ejemplo, los análisis de germinación, pureza física, vigor, etc. (Tom, citado por Chin, 1978).

La presente investigación se realizó en nim (*Azadirachta indica* A. Juss), especie que algunos autores como Ezumah (1986) y Ponnuswamy *et al.* (1991) reportan que posee semillas recalcitrantes con un periodo de viabilidad no mayor de dos meses. Esta especie ha adquirido gran importancia económica en Nicaragua, para la obtención de insecticidas apartir de sus semillas, aunque se reporta que las hojas también poseen estas propiedades en menor cantidad Zeledón (1990), Koul *et al.* (1990) reportan además, que tiene uso potencial en la industria farmacéutica, la producción de herramientas agrícolas y efectividad en el control de plagas.

En Nicaragua, la semilla es recolectada durante Junio, Julio y Agosto, utilizándose inmediatamente cuando se desea establecer viveros. Un período de viabilidad más largo podría permitir sembrar en los meses de Diciembre y Enero en un semillero y trasladar las plántulas al campo a inicio del invierno en Mayo o Junio. De esta manera los costos se podrían reducir, debido a que el período de mantenimiento en invernadero o estructuras similares podría reducirse considerablemente (Moya, 1992; Galán, 1992).

Dada la importancia de prolongar el período de viabilidad de las semillas de nim, con el presente trabajo se propuso alcanzar los siguientes objetivos:

- Determinar las mejores condiciones de almacenamiento para las semillas de *Azadirachta indica* A. Juss procedentes de Managua que permitan prolongar el periodo de viabilidad.
- Determinar el mejor de los empaques utilizados para el almacenamiento de estas semillas bajo las condiciones establecidas.

II.- REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Descripción botánica y distribución geográfica

Según el National Research Council (1992) en los Estados Unidos, el nim es un miembro de la familia del caoba, Meliaceae. De acuerdo al sistema de Cronquist (1981), citado por Teichman y Wyk (1994), pertenece a la sub-clase Rosidae, orden Sapindales. Hoy se conoce con el nombre botánico de *Azadirachta indica* A. Juss. Sin embargo, en el pasado se conoció por varios nombres, y anteriormente algunos botánicos lo agruparon con al menos uno de sus parientes. También está referido como *Melia azadirachta* L., *M. indica* Brandis, lila de la India o Margosa (Koul *et al.*, 1990; National Research Council, 1992).

El nim es un árbol que alcanza dimensiones grandes. El National Research Council (1992) reporta que puede crecer hasta 30 m de alto y 2.5 m en circunferencia y sus ramas extendidas forman copas redondeadas de hasta 10 m de lado a lado. Las flores son blancas, pequeñas, bisexuales y están situadas en racimos oscilares. El fruto es una drupa elipsoidal lisa, de hasta casi 2 cm de largo. Cuando madura, es amarillo o amarillo verdoso y consta de una pulpa dulce que encierra a una semilla. Normalmente, el árbol de nim comienza la producción de frutos entre los 3 y 5 años, volviéndose totalmente productivo a los 10 años, y a partir de entonces puede producir hasta 50 kg de frutos anualmente. Puede vivir más de 200 años.

Koul *et al.* (1990) apuntan que el nim crece 12-24 m de altura en India y su reproducción inicia después de 5 años. El mismo autor afirma que en Cuba, los árboles de nim alcanzan una altura de 14.2 m y un diámetro de 27 cm en 8 años. Mientras Zeledón (1990) en Nicaragua, menciona una altura de 12-15 m o más, iniciando su reproducción después de los 3 años y estabilizando su producción de frutos a los 5 años. Sus hojas son compuestas, siempre verdes con un promedio de 14 pares de folíolos, con inflorescencia en panículas y flores blancas muy aromáticas.

Koul *et al.*, (1990) afirman que el nim es una especie nativa de India. Sin embargo, el National Research Council considera que su origen exacto es dudoso, porque algunos investigadores lo atribuyen a las áreas de bosque seco a lo largo de todo el Sur y Sur-este de Asia,

incluyendo Pakistán, Sri Lanka, Tailandia, Malasia e Indonesia. El nim fue introducido a África a inicios del siglo XX donde hoy se encuentra bien establecido en al menos 30 países. Durante el siglo pasado hasta hoy, el nim ha sido establecido también en Fiji, isla Mauricio, el Caribe y muchos países de Centro y Sur América. En muchos casos, probablemente fue introducido por labriegos contratados o por habitantes de los bosques. En los Estados Unidos continentales, están prosperando plantaciones pequeñas en el sur de la Florida, y se han establecidos parcelas exploratorias en la parte sur de California y Arizona.

En Nicaragua el nim fue introducido en 1975, actualmente está distribuido en la región del Pacífico (Zeledón, 1990). Ahora es considerado como una alternativa para la reforestación dado su buen crecimiento en el área.



Figura 1. Arbol de nim (*Azadirachta indica* A. Juss).

2.2 Importancia

Muchos países han visto el nim como una especie potencial que se puede usar de diferentes maneras, principalmente para obtener insecticidas. Una cosa muy importante es que el nim crece bien en suelos pobres, así como donde el agua es escasa. Además, tiene una madera tan buena como la del caoba. También es bueno para hacer cortinas rompevientos alrededor de las tierras agrícolas y casas de los agricultores.

Actualmente, en Nicaragua y otros países está siendo usado como una alternativa para reducir el uso de productos agroquímicos en el control de plagas y enfermedades. Simultáneamente, la gente que trabaja con esta especie puede obtener otros beneficios como sombra y leña, ya que el nim es un recurso renovable que podría aprovecharse para el Tercer Mundo (Koul *et al.*, 1990).



Figura 2. Frutos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss)

2.3 Uso del nim

El árbol de nim tiene un alto potencial para usarse de diferentes maneras. Muchos de sus derivados se pueden utilizar como insecticida y artículos de tocador, farmacéuticos, fabricación de implementos agrícolas, muebles, alimentos para ganado y aves de corral, nitrificación de suelos para varios cultivos agrícolas y el control de plagas (Koul *et al.*, 1990).

En las partes semi-áridas del Oeste de Africa, la razón principal para preferir árboles de nim en la siembra de árboles solos, es una combinación de varios beneficios; la sombra y la repelencia de insectos, además de la buena disponibilidad de plántulas, ellos crecen rápido y son resistentes. Así, el nim es plantado más frecuente que los árboles que producen frutos o que son ornamentales, ó árboles que producen forraje o combustible, los cuales podrían tener requerimientos similares en el mismo sitio (Maydell, 1989).

En Ghana, el nim se ha vuelto el primer productor de leña para las llanuras densamente pobladas de Accra, y en los países de Somalia a Mauritania es el que va a la cabeza para ayudar a detener la extensión hacia el Sur del Desierto del Sahara (National Research Council, 1992).

2.4 Recalcitrancia

Ponnuswamy *et al.* (1991), citando a Roberts (1973) se refieren a los términos "ortodoxo" y "recalcitrante", que fueron introducidos para describir el comportamiento de las semillas en almacenamiento. Las semillas ortodoxas son retiradas de la planta madre a bajos contenidos de humedad, experimentando secamiento en la maduración y tolerancia en la deshidratación hasta el 5-6%. Al contrario, las semillas recalcitrantes no experimentan secamiento en la maduración y son derramadas o cosechadas a contenidos de humedad relativamente altos. Frecuentemente, estas semillas no viven más de 2-4 semanas y no son almacenables bajo las condiciones idóneas de las semillas ortodoxas. Pero Pammenter *et al.* (1984) afirman que los estudios sobre recalcitrancia pueden ser confundidos por la dependencia del contenido de humedad en el tiempo: no es evidente inmediatamente si los efectos observados son dependientes del tiempo o son debido al contenido reducido de humedad. Sin embargo, Berjak y Pammenter (1994) anotan que se ha vuelto evidente que la sensibilidad a la desecación y el comportamiento en el almacenamiento de las semillas recalcitrantes difiere considerablemente entre especies. Varios autores citados por Ponnuswamy *et al.* (1991), mencionan que hasta la fecha no ha habido método exitoso para el almacenamiento a largo plazo de las semillas recalcitrantes.

Para algunas semillas como cítricos y café que anteriormente fueron clasificadas dentro del grupo recalcitrante, se ha encontrado que no son realmente recalcitrante (Chin *et al.*, 1984). Aún es

dudoso si el nim es una recalcitrante verdadera o es una especie ortodoxa de vida corta. Ya que se encuentra en los bosques tropicales secos, mientras la mayoría de las especies tropicales recalcitrantes se han encontrado en los bosques tropicales húmedos, se ha sugerido que el nim podría tener semilla ortodoxa de vida corta (Willan, 1985, citado por Ponnuswamy *et al.*, 1991). Otras fuentes citadas por Ponnuswamy *et al.*, (1991) afirman que varios hechos, como la defensa de muchos para sembrar dentro de dos o tres semanas después de la recolección, la presencia de alto contenido de humedad en las semillas frescas y la manifestación de daño por refrigeración en las semillas, indica que la semilla es recalcitrante.

Semillas hidratadas de nim de origen costero de Kenia fueron almacenadas en bolsas de polietileno por Berjak *et al.* (1995). Según los autores, la semilla de nim tiene un comportamiento ortodoxo o recalcitrante dependiendo del origen. Después del almacenamiento de las semillas bajo condiciones de ambiente y refrigeración, las semillas de *A. indica* de este origen africano se encontró que se ajustan a las características esperadas de las especies recalcitrantes tropicales.

2.5 Almacenamiento

Aparte de las especies ortodoxas, hay muchas, especialmente las especies tropicales de semilla grande (esto es semillas recalcitrantes), para las cuales una disminución en el contenido de humedad por debajo de un valor relativamente alto (entre 12-31%) disminuirá el periodo de viabilidad (Chin *et al.*, 1984). Ya que las semillas recalcitrantes no pueden ser secadas a bajos contenidos de humedad, ninguna de ellas puede ser refrigerada a temperaturas por debajo de 0 °C sin sufrir daño por congelamiento. Hay también algunas especies tropicales de semillas recalcitrantes que son susceptibles a daños por refrigeración a temperaturas de 10 a 15 °C; por ejemplo cacao, mango y *Borneo camphor*. Sin embargo, esta complicación no se aplica a todas las especies recalcitrantes, y por eso la definición de semilla recalcitrante está basada únicamente en su respuesta al contenido de humedad (Roberts y King, 1980). Las semillas recalcitrantes solamente pueden ser almacenadas en medios húmedos para evitar daño por deshidratación y en condiciones relativamente calientes, ya que en la mayoría de los casos son sensibles al daño por refrigeración (Lyons *et al.*, 1979; Chin y Roberts, 1980; Graham y Paterson, 1982; citados por Ponnuswamy *et al.*, 1991). Aún si las semillas recalcitrantes son mantenidas en condiciones húmedas, su longevidad es

relativamente corta, y varía de pocas semanas a pocos meses, dependiendo de la especie (Roberts y King, 1980).

Las semillas de nim tienen un período corto de viabilidad (FAO, 1985). De acuerdo a Ezumah (1986), tienen germinación pobre después de 16 semanas de almacenamiento a temperatura ambiente de un cuarto (26-28 °C), lo que es mejor que bajo almacenamiento frío (6-7 °C). Pero Roy (1995), obtuvo una germinación de 80% después de 8 semanas con semillas almacenadas a 5 °C. Maithani *et al.* (1989) mantuvo semillas vivas por un período máximo de 6 meses, cuando las almacenó en cajas de cartón perforadas (semillas envueltas en papel secante) a 5 °C, 15°C y temperatura ambiente de cuarto. Por otra parte, Nagaveni *et al.* (1987) observaron que después de 6 a 7 meses de almacenamiento la germinación disminuyó alrededor del 50%, y después de este período se volvió muy baja. De acuerdo a los autores citados anteriormente, las semillas de nim pierden su capacidad de germinación de los 2 a 6 meses después de la recolección.

III.- MATERIALES Y METODOS

Este trabajo consistió en el envasado de las semillas en tres tipos de empaques y su almacenamiento en siete condiciones ambientales para estudiar el comportamiento de la viabilidad de la semilla en el período de Julio a Octubre de 1994.

3.1 Localización de la plantación de nim y del experimento

La plantación de nim se encuentra localizada a 8 km hacia el Este de la ciudad de Managua en la cooperativa Carlos Fonseca Amador, localizada en Veracruz a los 12° 06' Norte, 86° 10' Oeste y 56 msnm y con un suelo volcánico. Tiene un área de 2.1 ha con árboles de 10 años de edad actualmente y buena producción de frutos.

El experimento se estableció en el Programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN), Universidad Nacional Agraria, km 12 ½ Carretera Norte, Managua. En la tabla 1 se presentan los datos climatológicos durante la realización del estudio.

Tabla 1. Datos climatológicos durante el periodo experimental

Meses (1994)	Temperatura (°C)			H.R. (%)	Precipitación (mm)
	Max.	Med.	Min.		
Junio	33.0	27.4	24.1	74	49.3
Julio	32.9	27.2	23.1	76	97.3
Agosto	33.6	27.2	23.0	78	109.4
Septiembre	32.7	26.8	23.2	82	167.7
Octubre	32.7	26.8	22.7	84	223.1
Noviembre	31.9	26.1	21.8	82	143.3
Diciembre	32.3	25.4	21.1	74	10.2

Fuente: INETER, 1995.

3.2 Recolección de los frutos y procesamiento

Los frutos fueron recolectados de 300 árboles de nim aproximadamente los días 29 y 30 de Junio 1994; se cosecharon manualmente sólo frutos de coloración amarilla, para disminuir las

posibles diferencias entre frutos muy maduros o inmaduros. El total de frutos cosechados fue de 195 kg, los que fueron fermentados durante 24 horas en sacos de nylon, despulpados y lavados manualmente en agua de grifo. El secado se hizo al sol durante 6 días en zarandas de alambre, teniéndose el cuidado de ponerlas bajo techo durante la noche o lluvias. Posteriormente la semilla fue dividida en 21 sub-muestras para ser envasadas en tres tipos de empaques y almacenadas en siete condiciones ambientales.

3.3 Empaques

Dependiendo del tipo de semilla, de las condiciones de almacenamiento y del grado de secamiento de las semillas, se puede utilizar envases permeables, semi-permeables o impermeables al vapor de agua.

Los tres tipos de empaques utilizados en este estudio fueron: bolsa de algodón, bolsa plástica + bolsa craft y bolsa polilaminada, respectivamente. El hecho de utilizar bolsas craft fue para evitar algún efecto de la luz sobre la composición de las semillas cuando ésta se envasó en bolsas plásticas. La tabla 2 presenta las dimensiones de los empaques utilizados.

Tabla 2. Dimensiones de los empaques

Empaques	Ancho (cm)	Alto (cm)	Profundidad (cm)	Espesor (μ)
Bolsas de algodón	27.0	41.0	-	71
Bolsas plásticas	30.0	41.5	-	40
Bolsas de papel craft	17.8	34.0	11.4	90
Bolsas polilaminadas	16.0	31.7	-	110

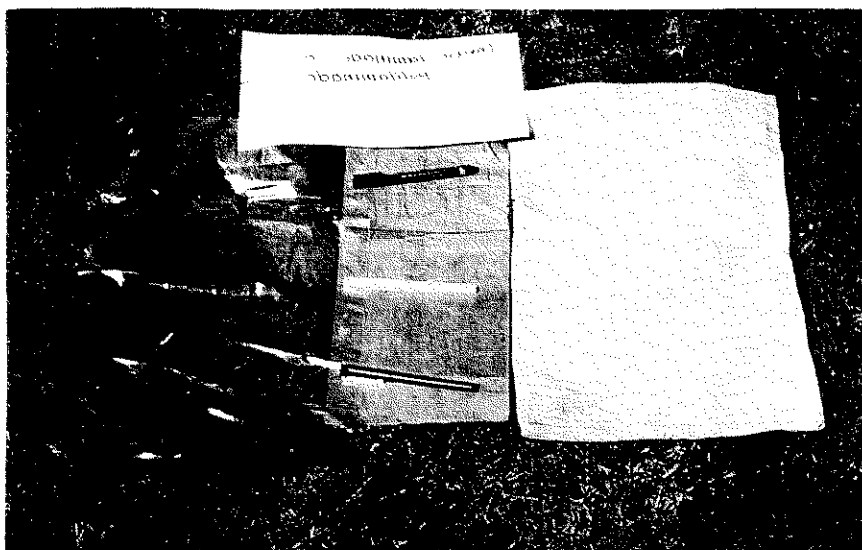


Figura 3. Tipos de empaques

3.4 Condiciones Ambientales

En esta fase experimental se utilizó las siguientes condiciones ambientales: Laboratorio de semillas, tres cámaras de germinación, una pre-cámara, un cuarto de secado y un cuarto frío, en los cuales se consideró la temperatura y la humedad relativa. La tabla 3 describe las condiciones ambientales.

Tabla 3. Características de las condiciones ambientales

Nº	Ambiente	Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)
1	Laboratorio de semilla	23-30	60-70
2	Cámara de germinación 1	15	70
3	Cámara de germinación 2	15	75
4	Cámara de germinación 3	20	85
5	Pre-cámara	21-25	60-75
6	Cuarto de secado	15-18	18
7	Cuarto frío	5	60

3.4.1 Descripción de los ambientes

Ambiente 1: Lo constituyó el laboratorio de semilla, el que presenta paredes y techo laminado externa e internamente, con material aislante entre láminas y cielo raso de cartón comprimido.

Ambiente 2, 3, 4: Se consideraron las tres cámaras de germinación, equipadas para controlar la humedad relativa, temperatura y luz.

Ambiente 5: La pre-cámara es un espacio entre un cuarto frío y el cuarto de secado que tiene como función amortiguar las condiciones externas antes de entrar al cuarto de secado o al cuarto frío.

Ambiente 6: Lo constituyó el cuarto de secado, que posee techo y paredes de láminas separadas con material aislante, equipado con un sistema de enfriamiento y deshumificador para el secado de semillas.

Ambiente 7: Se consideró el cuarto frío, que presenta las mismas estructuras del cuarto de secado, con la diferencia de que este ambiente posee material aislante forrado con láminas de aluminio. Está equipado con un sistema de enfriamiento.

Los ambientes 5, 6 y 7 están bajo un mismo edificio de estructura metálica.

3.5 Diseño experimental

Los tipos de empaques y ambientes de almacenamiento son los factores que interactuaron para prolongar la viabilidad de la semilla. Esto indica un experimento bifactorial arreglado en un Diseño Completamente al Azar con 6 x 30 semillas para la prueba de germinación y 2 x 50 semillas para el análisis de viabilidad y dos observaciones para la prueba de humedad. El factor A correspondió a los empaques con 3 niveles y el factor B a los tipos de ambiente de almacenamiento con 7 niveles, resultando un total de 21 tratamientos. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba de separación de medias según Tukey al

5% de significancia. Todos los datos de viabilidad, germinación y contenido de humedad fueron transformados a valores de arcoseno. En la tabla 4 se describen los tratamientos en estudio.

Tabla 4. Descripción de los tratamientos en estudio para determinar la influencia de los empaques y las condiciones ambientales sobre la viabilidad de las semillas de nim

Tratamientos		
Nº	Tipos de empaques	Condiciones de almacenamiento
1	Bolsas de algodón	b1 Laboratorio de semilla
2	Bolsas de algodón	b2 Cámara de germinación 1
3	Bolsas de algodón	b3 Cámara de germinación 2
4	a1 Bolsas de algodón	b4 Cámara de germinación 3
5	Bolsas de algodón	b5 Pre- cámara
6	Bolsas de algodón	b6 Cuarto de secado
7	Bolsas de algodón	b7 Cuarto frío
8	Bolsas plásticas + Bolsas de papel craft	b1 Laboratorio de semilla
9	Bolsas plásticas + Bolsas de papel craft	b2 Cámara de germinación 1
10	Bolsas plásticas + Bolsas de papel craft	b3 Cámara de germinación 2
11	a2 Bolsas plásticas + Bolsas de papel craft	b4 Cámara de germinación 3
12	Bolsas plásticas + Bolsas de papel craft	b5 Pre-cámara
13	Bolsas plásticas + Bolsas de papel craft	b6 Cuarto de secado
14	Bolsas plásticas + Bolsas de papel craft	b7 Cuarto frío
15	Bolsas polilaminadas	b1 Laboratorio de semilla
16	Bolsas polilaminadas	b2 Cámara de germinación 1
17	Bolsas polilaminadas	b3 Cámara de germinación 2
18	a3 Bolsas polilaminadas	b4 Cámara de germinación 3
19	Bolsas polilaminadas	b5 Pre-cámara
20	Bolsas polilaminadas	b6 Cuarto de secado
21	Bolsas polilaminadas	b7 Cuarto frío

3.6 Variables medidas

Para cada tratamiento en estudio se hicieron pruebas de viabilidad, humedad y análisis de germinación. Cada prueba se realizó en los días: 1, 7, 14, 28, 42, 56, 70, 84, 98 y 112, siendo un día después de la cosecha el día 1. La metodología aplicada se basó en las reglas de la ISTA (1985).

3.6.1 Viabilidad

Para realizar esta prueba se eliminó el endocarpio utilizando una pinza. La mitad de la semilla que contenía el eje embrionario se colocó en una solución de 2,3,5-Trifenil Cloruro de

Tetrazolio (TCT) a una concentración de 0.5%, el tiempo de sumersión de la semilla en la solución fue de 16 - 20 horas. Se hicieron dos réplicas de 50 semillas por cada tratamiento. Para preparar la solución se usó agua destilada con pH de 6.3 - 6.8.



Figura 4. Viabilidad de la semilla

3.6.2 Germinación

Se realizó en cajones de madera con arena fina esterilizada y agua de grifo reposada como sustrato. Los cajones tenían una dimensión de 3.00 m x 1.50 m x 0.20 m aproximadamente (largo x ancho x altura), respectivamente. Las semillas fueron sembradas a 2 cm de profundidad y los cajones protegidos por una estructura metálica cubierta de plástico como techo para evitar el exceso de humedad por lluvias. Los datos de germinación se tomaron a los 20 días después de la siembra. Cada tratamiento constaba de 6 réplicas de 30 semillas cada una.

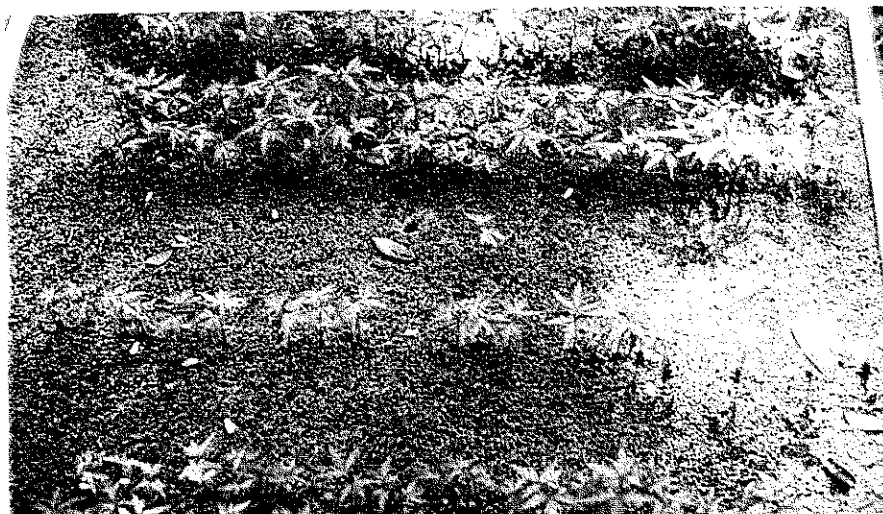


Figura 5. Germinación de la semilla

3.6.3 Humedad

Esta se realizó utilizando el método del horno a baja temperatura constante; es decir, 103 °C durante 17±1 horas. La semilla fue partida transversalmente con pinzas ya que no puede molerse por su alto contenido de aceite. Se hizo dos réplicas de 25 semillas por cada tratamiento, aproximadamente. Los cálculos fueron realizados en base al peso húmedo, utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{(M_2 - M_3)}{(M_2 - M_1)} \times 100$$

Donde:

M₁ es el peso en gramos del contenedor y su tapa,

M₂ es el peso en gramos del contenedor, su tapa, y su contenido antes del secado, y

M₃ es el peso en gramos del contenedor, la tapa, y el contenido después del secado.

3.7 Experimentos adicionales

Debido al poco conocimiento de como realizar los análisis de calidad de la semilla, se consideró necesario realizar varios ensayos adicionales previos al presente trabajo. Los estudios se establecieron en un Diseño completamente al Azar. Los datos fueron analizados a través de análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba de rango múltiple de Duncan al 5% de significancia.

3.7.1 Análisis comparativo de la germinación en arena fina, regada con dos tipos de agua

Se realizó en 1994 utilizando 6 réplicas de 30 semillas cada una. El agua de grifo se agregó directamente a una parte de los tratamientos y a la otra se le agregó agua reposada por 48 horas, para compararlas como agentes de riego. La tabla 5 muestra los análisis de los dos tipos de agua.

Tabla 5. Calidad de agua de los grifos en los laboratorios de la UNA en 1994

Tiempo	Aniones en m. e. / l			Cationes en m. e. / l
	CO ₃ =	HCO ₃ -	Cl-	Na+
0 horas	1.44	8.23	1.47	4.53
48 horas	0.00	0.88	0.66	0.10

Fuente: Laboratorio de suelo de la UNA.

3.7.2 Prueba comparativa de la germinación en arena fina y arena gruesa

Se usaron cuatro réplicas de 30 semillas cada una en arena fina tomada del lago Cocibolca y arena de construcción. El experimento se realizó en recipientes de barro en 1993 y 1994.

3.7.3 Calidad de las semillas cosechadas a las 10 y 12 semanas después de la floración

El ensayo se realizó en 1993 para estudiar el efecto de la madurez de los frutos. Se midió viabilidad (2 x 50 semillas), germinación (6 x 25 semillas) y humedad (2 réplicas). Los frutos se cosecharon el 14 y 28 de Diciembre.

3.7.4 Daños mecánicos de las semillas

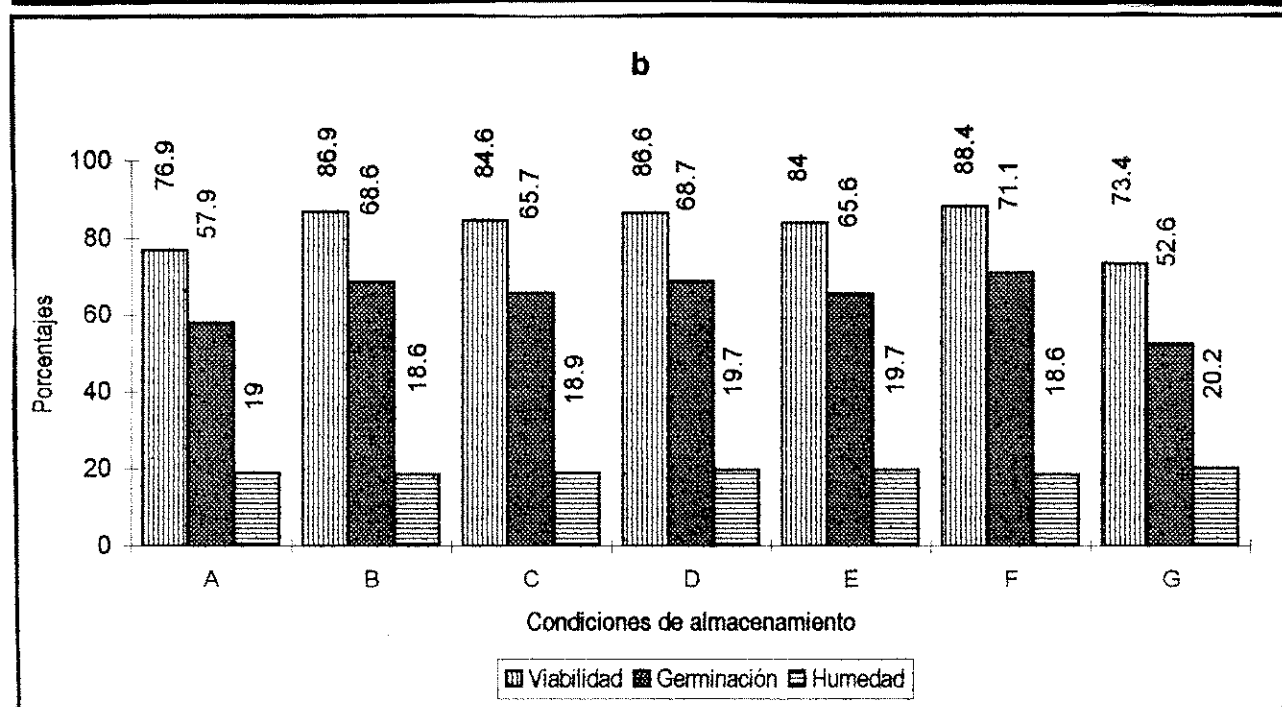
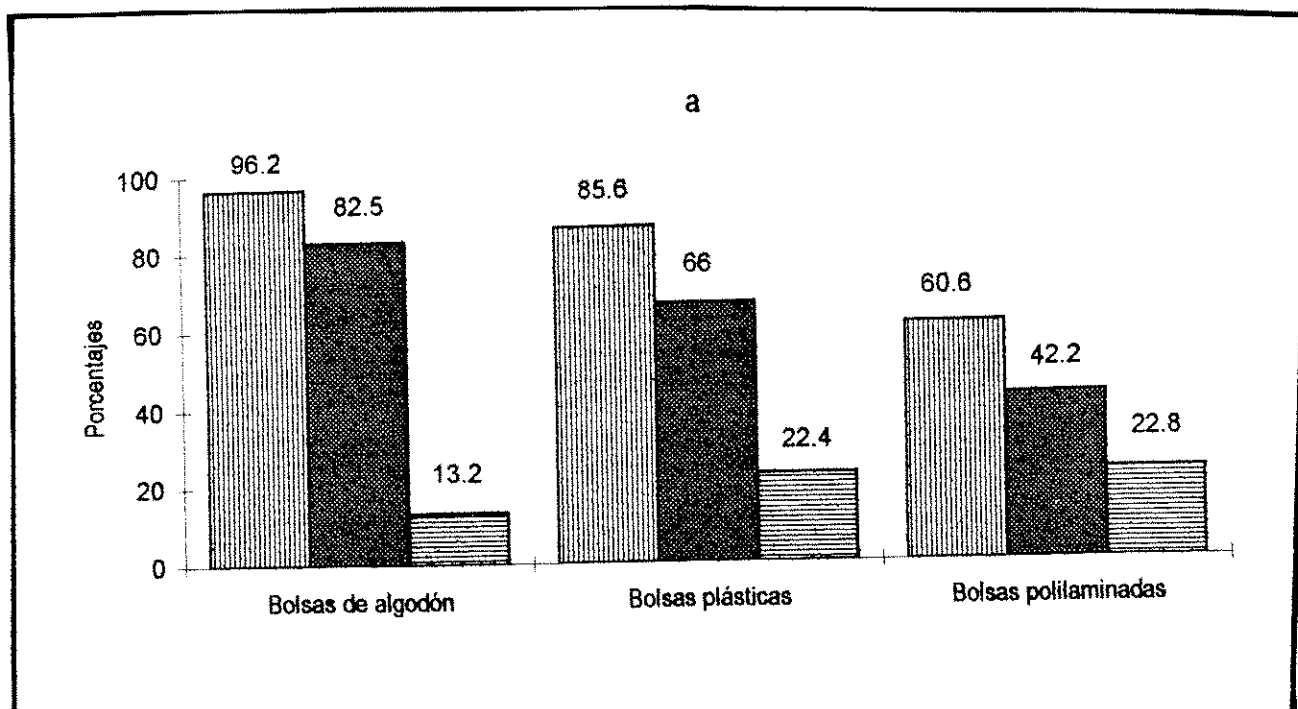
La semilla fue recolectada 7 días después de ser cosechados los frutos en Veracruz y los Brasiles en 1994. En Veracruz se encuentra una oficina de las cooperativas de nim que compra y prepara semillas de nim para la siembra. En los Brasiles, situado a 12 km al Oeste de Managua, está la fábrica donde los productos de insecticidas son elaborados y las semillas son vendidas. En ambas partes las semillas fueron divididas en cuatro grupos: sin un pedazo de endocarpio, con endocarpio abierto, endocarpio quebrado y semillas sanas. Estos grupos fueron sometidos a las pruebas de viabilidad, germinación y humedad, siguiendo la misma metodología.

IV.- RESULTADOS

4.1 Comportamiento de las variables evaluadas en los diferentes empaques y ambientes de almacenamiento

Los valores iniciales de la viabilidad, la germinación y el contenido de humedad fueron de 100, 80 y 38.2%, respectivamente (Tabla 6, Anexo 1). Después de seis días de secado, los valores fueron 99, 92 y 20.9%. Los promedios generales del efecto de los empaques y las condiciones de almacenamiento se muestran en la Figura 6a. Las bolsas de algodón mostraron ser el mejor material para almacenar estas semillas bajo las condiciones prevalecientes de almacenamiento. En estos empaques se obtuvo los valores más alto de viabilidad y germinación, y el contenido de humedad más bajo. La semilla almacenada en bolsas polilaminadas logró los valores más bajos en los análisis de viabilidad y germinación, coincidiendo con los valores más altos en el contenido de humedad de la semilla.

Para las condiciones de almacenamiento (Figura 6b), el mejor lugar fue el cuarto de secado donde la semilla alcanzó al final la viabilidad y germinación más alta, y el contenido de humedad más bajo. La semilla almacenada en el cuarto frío resultó con viabilidad y germinación más baja, contrario al cuarto de secado.



A: Laboratorio de semilla; B: Cámara de germinación 1; C: Cámara de germinación 2; D: Cámara de germinación 3; E: Pre-cámara 1; F: Cuarto de secado; G: Cuarto frío.

Figura 6. Efecto de tres empaques (a) y siete condiciones ambientales (b) sobre la viabilidad y germinación de la semilla de nim después de 112 días, promedio total en 1994

Se encontraron diferencias significativas entre los empaques y entre condiciones de almacenamiento (Tabla 7, Anexo 2). El análisis estadístico confirma que el mejor de los empaques fue la bolsa de algodón, donde se obtuvo la viabilidad y germinación más alta y el contenido de humedad más bajo.

El mismo análisis demuestra que el cuarto de secado y las cámaras de germinación 1 y 3 fueron los mejores almacenes y el cuarto frío el más inadecuado para almacenar las semillas de nim.

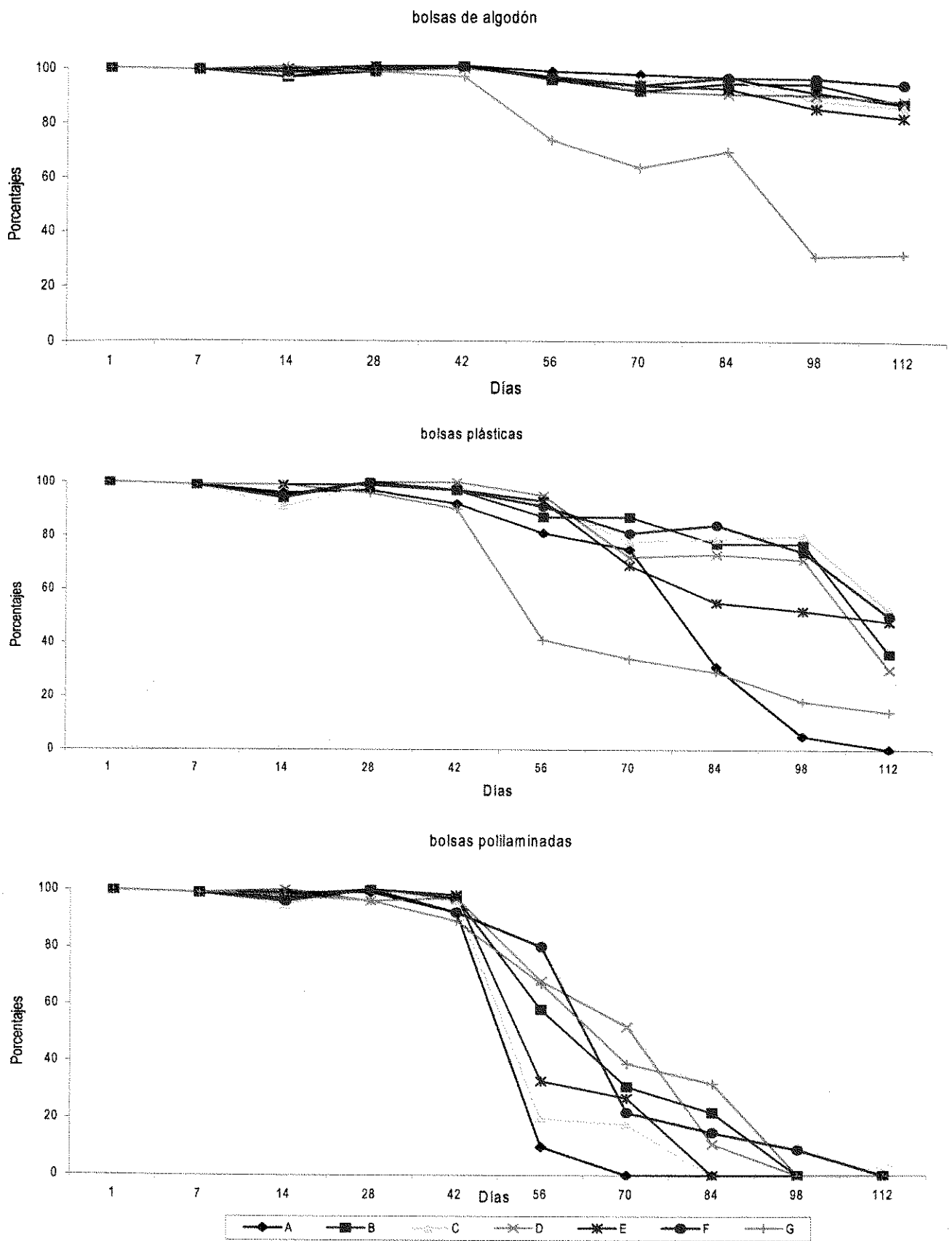
Los efectos de cada empaque y cada almacén sobre las variables viabilidad y germinación se pueden observar en la figura 7.

Las bolsas de algodón mantuvieron la viabilidad de la semilla en niveles altos durante 112 días (ver Tabla 6, Anexo 1). Este tipo de empaque combinado con el efecto de los factores físicos de almacenamiento demuestra que el mejor lugar fue el cuarto de secado (94%), seguido por la cámara de germinación 3 (88%) y la cámara de germinación 1 (87%) para el caso de viabilidad. Al final los valores de germinación más altos se obtuvieron en los mismos almacenes con 83, 79 y 80%, respectivamente. La semilla en el cuarto frío alcanzó los valores más bajos para viabilidad y germinación con 32 y 26%, respectivamente. Los valores más altos de viabilidad y germinación coincidieron con los valores más bajos del contenido de humedad.

Las bolsas plásticas fueron el segundo mejor material de empaque; pero en general, la semilla almacenada de esta manera finalizó con valores menores de 52 y 36% para las dos variables. Al final, el contenido de humedad fue similar al del inicio, debido a la semi-permeabilidad de las bolsas plásticas.

En las bolsas polilaminadas, la semilla perdió la viabilidad después de los 98 días, excepto en el cuarto de secado donde la semilla tenía aún 9 y 4% de viabilidad y germinación. La semilla

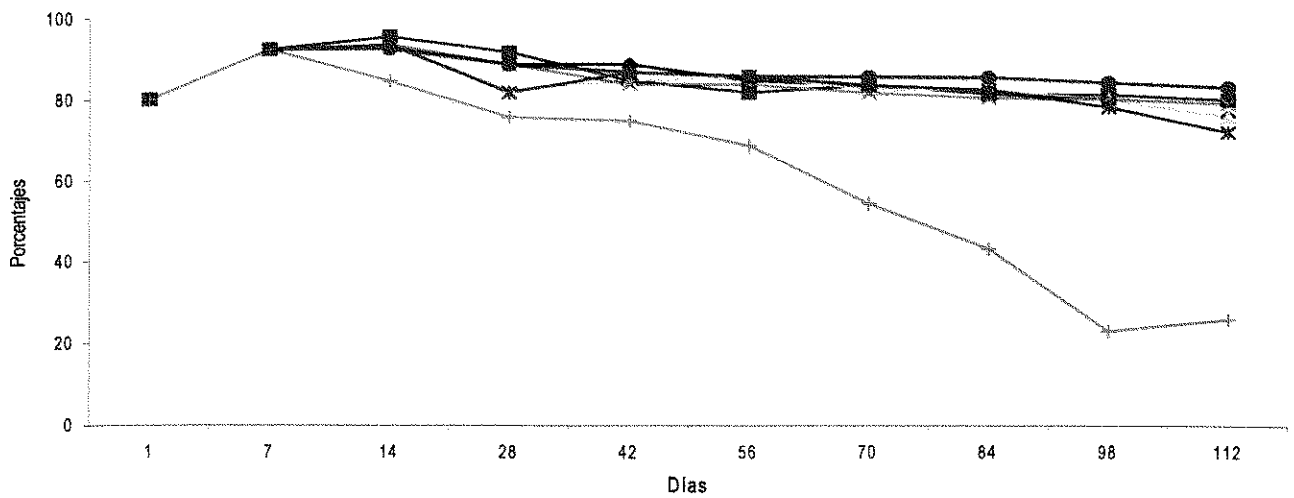
almacenada en las condiciones de laboratorio perdió su viabilidad después de 56 días, seguido por la cámara de germinación 2 y la pre-cámara, después de los 84 días.



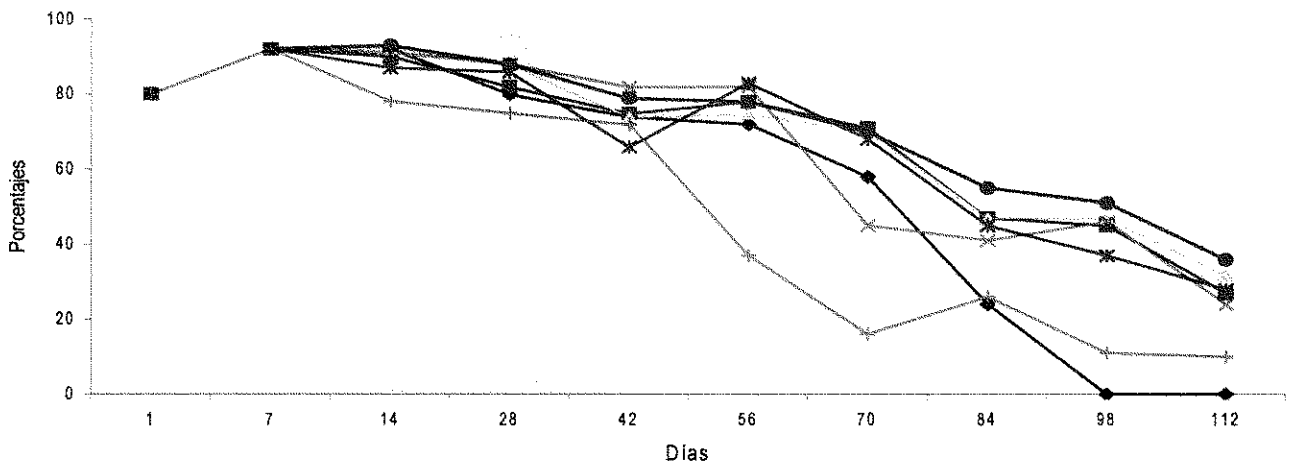
A: Laboratorio de semilla; B: Cámara de germinación 1; C: Cámara de germinación 2; D: Cámara de germinación 3; E: Pre-cámara; F: Cuarto de secado; G: Cuarto frío.

Figura 7a. Efecto combinado de tres tipos de empaques y siete condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad de la semilla de nim en 1994.

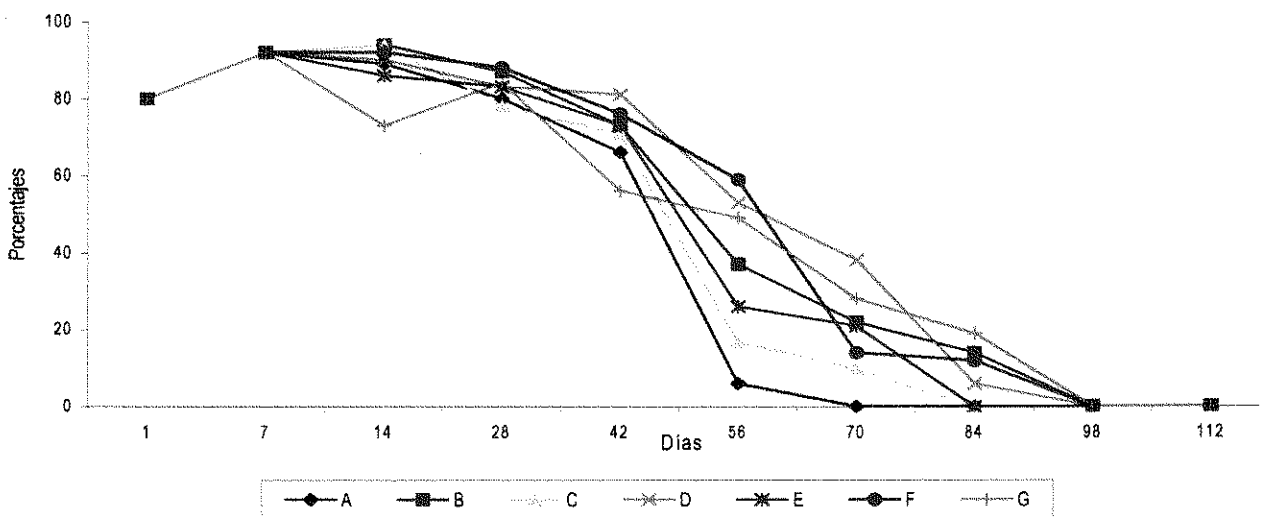
bolsas de algodón



bolsas plásticas



bolsas polilaminadas



A: Laboratorio de semilla; B: Cámara de germinación 1; C: Cámara de germinación 2; D: Cámara de germinación 3; E: Pre-cámara; F: Cuarto de secado; G: Cuarto frío.

Figura 7b. Efecto combinado de tres tipos de empaques y siete condiciones de almacenamiento sobre la germinación de la semilla de nim en 1994.

4.2.- Experimentos adicionales

4.2.1- Análisis comparativo de la germinación en arena fina regada con dos tipos de agua

La figura 8 muestra el porcentaje de germinación (emergencia) de las semillas de nim cuando fueron sembradas en arena fina y regadas con agua fresca obtenida directamente del grifo y con agua reposada por 48 horas. En el segundo caso se obtuvo el valor más alto de plántulas emergidas, aunque estadísticamente no se encontró diferencias significativas. La figura también muestra el porcentaje de plántulas anormales, siendo menor en el caso del agua reposada.

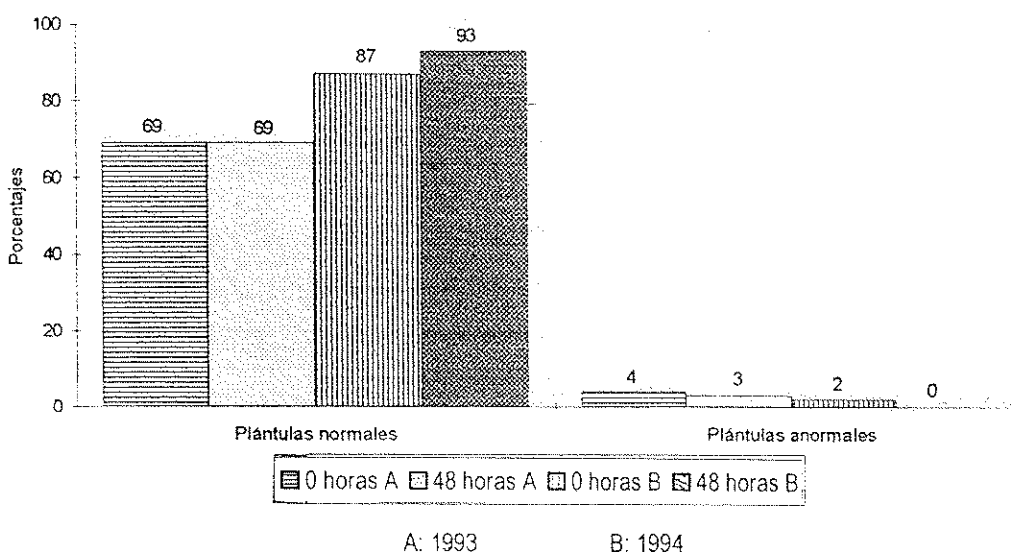


Figura 8. Porcentaje de germinación (emergencia) de las semillas de nim 20 días después de la siembra en arena fina e irrigadas con agua fresca y agua reposada por 48 horas respectivamente, en 1994.

4.2.2 Análisis de germinación en arena fina y arena gruesa

La germinación (emergencia) en arena fina y arena gruesa respectivamente se puede observar en la figura 9. Este ensayo preliminar se realizó en 1993 y 1994; en ambos casos el valor más alto se obtuvo en arena fina, aunque el análisis estadístico no reveló diferencias significativas. El porcentaje de plántulas anormales resultó relativamente bajo.

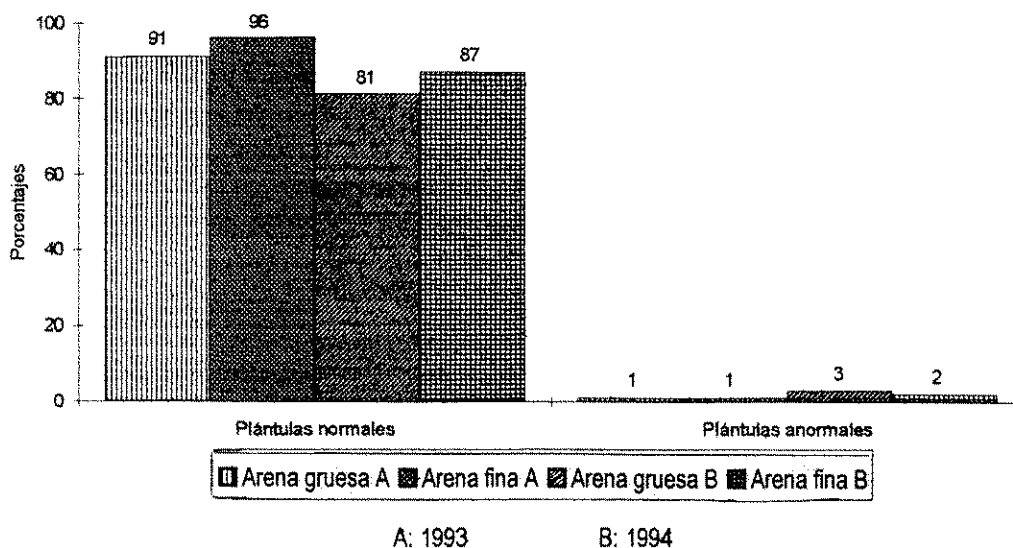


Figura 9. Análisis de germinación de las semillas en arena fina y gruesa, en 1993 y 1994.

4.2.3 Calidad de las semillas cosechadas 10 y 12 semanas después de la floración

La figura 10 muestra la viabilidad, germinación y el contenido de humedad de las semillas a las 10 y 12 semanas después de la floración. La mejor germinación se obtuvo a las 12 semanas. Este segundo resultado coincidió con la menor cantidad de plántulas anormales y menor contenido de humedad de la semilla. Para las cuatro variables medidas se encontró diferencia estadística significativa (Tabla 8, Anexo 3).

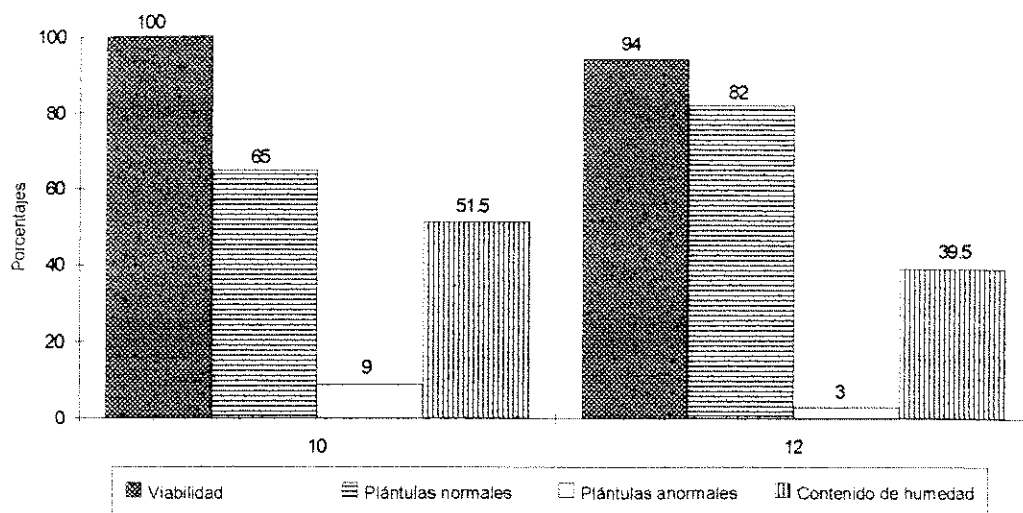
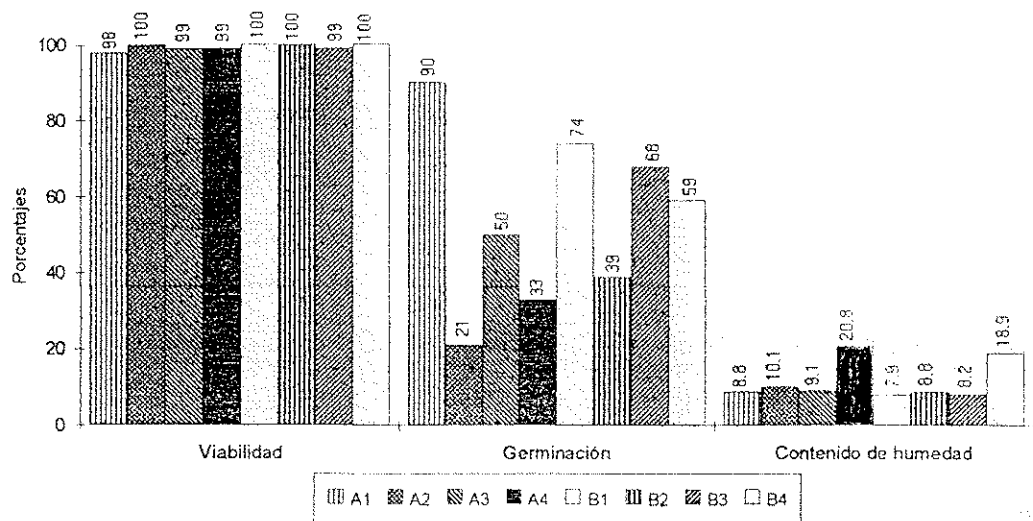


Figura 10. Calidad de las semillas a la 10 y 12 semanas después de la floración.

4.2.4 Daños mecánicos en las semillas

Las variables viabilidad, germinación y contenido de humedad de las semillas tuvieron un comportamiento similar en ambas localidades: Sábana Grande y Los Brasiles (Figura 11). El análisis estadístico mostró diferencias estadísticas para las variables evaluadas (Tabla 9, Anexo 4). En ambas localidades, la viabilidad de las semillas fue bien alta, independientemente del daño. El análisis de germinación reveló estar más influenciado por los diferentes tipos de daños. Los valores más altos para esta variable se registraron en aquellas semillas sin un pedazo de endocarpio, seguidas por las semillas con endocarpio quebrado, semillas sanas y semillas con endocarpio abierto, respectivamente. Parece probable, que la dormancia tuvo poco efecto después de la cosecha. Esto podría explicar los resultados de la germinación en comparación a aquellos de viabilidad según las pruebas de tetrazolio. En ambas localidades el contenido de humedad tuvo el mismo orden, siendo el más alto en las semillas sanas.



1: Sin un pedazo de endocarpio; 2: Endocarpio abierto; 3: Endocarpio quebrado; 4: Semillas sanas

Figura 11. Viabilidad, plántulas normales y contenido de humedad de las semillas 7 días después de la cosecha en Sabana Grande (A) y Los Brasiles (B), en 1994.

V.- DISCUSION

Los factores físicos en almacenamiento (humedad relativa y temperatura) y el tipo de empaque juegan un papel determinante en el período de viabilidad de las semillas. Las semillas ortodoxas se preservan mejor cuanto menor sean los valores de los factores físicos, contrario al caso de las semillas recalcitrantes, las que son sensibles a los daños por helamiento y secamiento (Gómez, 1990). En el presente estudio, en el ambiente de cuarto frío predominó humedad relativa de 60% y temperatura de 5 °C, lo que hizo que las semillas se deterioraran más aceleradamente que en los otros ambientes, independientemente del tipo de envase; sin embargo, el deterioro fue más acelerado en los envases herméticos y semi-herméticos, respectivamente. En cuanto al ambiente de cuarto de secado, las condiciones de humedad relativa (18%) y temperatura (15-18 °C) provocaron que las semillas mantuvieran valores de 94%, 83% y 6.2% para viabilidad, germinación y humedad respectivamente, en los envases de algodón (Tabla 6, Anexo1). Los envases herméticos y semi-herméticos en el mismo ambiente no permitieron el libre intercambio gaseoso de la semilla, sufriendo la semilla un daño acelerado.

Ezumah (1986) estudió el almacenamiento de semillas de nim en Nigeria a 6-7 °C y a 26-28 °C. Las condiciones más calientes fueron las mejores, donde las semillas perdieron la viabilidad después de 16 semanas. Roederer y Bellefontaine (1989) reportan que las semillas de nim almacenadas a 15 °C en bolsas de algodón mantuvieron capacidad germinativa más alta que aquellas almacenadas en envases herméticos. Ponnuswamy *et al.* (1991) almacenaron semillas de nim en recipientes de barro enterrados en una cama de arena húmeda y mantuvieron una germinabilidad de la semilla de 62% después de tres meses.

En 1993, Wolf en el Forestry Seed Centre Muguga estudió diferentes métodos de almacenamiento y después de 10 semanas, se observó una significativa caída en la viabilidad. En el presente trabajo, los empaques y las condiciones almacenamiento estuvieron interrelacionados para prolongar o reducir el período de viabilidad, dependiendo del caso. Las semillas de nim almacenadas en bolsas de algodón en el cuarto de secado alcanzaron los valores más altos para viabilidad y germinación, y el contenido de humedad más bajo. Las bolsas de algodón permitieron el intercambio gaseoso entre las semillas y el aire circundante. Las bolsas plásticas permitieron un

pequeño intercambio gaseoso y en la mayoría de las condiciones de almacenamiento las semillas almacenadas de esa forma estuvieron vivas 112 días después de la cosecha, aunque en menor porcentaje que aquellas envasadas en bolsas de algodón. Las bolsas polilaminadas (herméticas) fue el empaque más inadecuado, puesto que las semillas perdieron la viabilidad antes de los 112 días; en este caso, no hubo intercambio gaseoso entre la semilla y el medio exterior al envase, el contenido de humedad fue elevado, siendo alto el proceso de deterioro.

Chaisurisri et al. (1990), almacenaron semilla de nim bajo tres condiciones diferentes, secándolas previamente y usando bolsa de algodón y de plástico. Las semillas envasadas en bolsas de algodón a 15 °C, germinaron en un 62% después de cuatro meses; comparando sus resultados con este estudio, en la cámara de germinación uno, cámara de germinación dos y el cuarto de secado, las semillas estuvieron almacenadas a temperatura de 15 °C en cada uno de los ambientes, obteniéndose germinación de 68.6, 65.7 y 71.1%, respectivamente a los 112 días (Tabla 7, Anexo 2).

Además, Berjak et al. (1995) apuntan que la viabilidad de las semillas de nim está aparentemente relacionada a la procedencia. En un estudio en Kenia, Wolf (1993) encontró que las semillas de diferentes orígenes alcanzaron diferentes niveles de germinación después de 11 semanas de almacenamiento. Es posible que los árboles de nim en Nicaragua tengan diferente comportamiento que aquellos de otras zonas o de otros países, dependiendo del ambiente.

En los experimentos adicionales se observó un porcentaje de germinación más alto y más rápido en aquellas semillas humedecidas con agua de grifo reposada por 48 horas que en aquellas humedecidas con agua fresca del grifo. El análisis de agua realizado mostró un contenido de sales más elevado en el agua sin reposar, con la cual se obtuvo los resultados más bajo de germinación, posiblemente al efecto inhibitor sobre el proceso germinativo.

Maithani et al. (1989) encontraron que las semillas de nim alcanzaron su máxima capacidad de germinación y viabilidad a las 10 y 12 semanas después de la floración. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, cuando las semillas se colectaron a partir de

la segunda cosecha de Diciembre, durante la estación seca en Nicaragua. No obstante, la producción principal es en la estación lluviosa, de Junio a Agosto, cuando el período de floración a la madurez de la semilla puede ser más largo que en la estación seca. A partir de los resultados, es válido mencionar que a pesar del mayor porcentaje de viabilidad alcanzado por las semillas a las 10 semanas, el mayor porcentaje de germinación se logró a las 12 semanas coincidiendo éste con el menor porcentaje de plántulas anormales y el menor contenido de agua. Esto es indicio que a las 10 semanas aún la semilla no había alcanzado la madurez fisiológica durante la época seca.

Los resultados obtenidos en las semillas con diferentes daños mecánicos sugieren que el endocarpio juega un papel importante en el proceso de germinación. Es posible que el endocarpio retarde la germinación, ya que las semillas sanas alcanzaron la segunda germinación más baja a los 20 días después de la siembra. Chaney y Knudson (1988) encontraron que la germinación mejoró cuando el endocarpio fue removido, lo que puede indicar cierto grado de impermeabilidad al agua causado por el mismo. Coincide también en estas semillas sanas, el contenido de agua más alto; es decir, existe dificultad en el secado de las semillas realizado en la empresa acopiadora donde fueron recolectadas.

VI.- CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede concluir lo siguiente:

- 1.- Para prolongar el período de viabilidad por lo menos hasta cuatro meses, las semillas de nim procedente de Managua se pueden secar y almacenar en bolsas de algodón a 15 °C y entre 18-60 % de humedad relativa.
- 2.- Las bolsas polilaminadas y las bolsas plásticas no fueron adecuadas para almacenar las semillas de nim por más de 42 días, bajo las condiciones iniciales de contenido de humedad.
- 3.- Para el análisis de germinación resultó mejor el uso de arena fina y agua de grifo almacenada por 48 horas en vez de arena gruesa y agua fresca del grifo.
- 4.- Los frutos de nim cosechados a las 12 semanas mostraron mejor calidad fisiológica que los recolectados a las 10 semanas.
- 5.- El análisis de diferentes daños mecánicos en el endocarpio del fruto mostró efectos diferentes en la germinación y contenido de humedad de la semilla.

VII.- RECOMENDACIONES

- 1.- Realizar trabajos de este tipo para determinar las condiciones de almacenamiento y contenido de humedad de la semilla más apropiadas para preservarla por un período más largo.
- 2.- Realizar estudios sobre el contenido de Azadirachtina, en plantíos con diferentes orígenes en Nicaragua para determinar si el mayor o menor contenido de esta sustancia está relacionado con el período de viabilidad de la semilla.
- 3.- En experimentos posteriores, al hacer uso de bolsas polilaminadas como envase tener en cuenta el contenido de humedad inicial de la semilla para aquellos recipientes herméticos.

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Berjak, P. , G. K. Campbell, W. Omondi-Oloo, N. W. Pammenter and Jill M. Farrant. 1995. Responses of Seeds of *Azadirachta indica* (Neem) to short-term storage under ambient or chilled conditions. Abstract Plant Cell Biology Research Unit, University of Natal. South Africa. ISTA Symposium Abstract, Copenhagen.
- Berjak, P. and N. W. Pammenter. 1994. Recalcitrance is not an all-or-nothing situation. Comment. Department of Biology, University of Natal (South Africa), Seed Science Research (1994) 4, 263-264.
- Boswel, V. R. 1961. Qué son las semillas y qué hacen. Introducción. Semillas: anuario de agricultura. Edición Revolucionaria (1968). La Habana (Cuba). Pag. 19-36.
- Chaisurisri, K., B. Ponoy, P. Wasuwanich. 1990. Storage of *Azadirachta indica* A. Juss Seed Abstract 1990. Vol. 13 N° 4, pag. 150
- Chaney, W. R. & Knudson, D. M. 1988. Germination of seeds of *Azadirachta indica* enhanced by endocarp removal. Seed Abstract 1989. Vol. N° 8, 314 pag.
- Chin, H. F. 1978. Production and storage of recalcitrant seeds in the tropics. Acta horticulturae 83. 1978. Seed problems. Agronomy Department, University, Pertanian Malaysia, Serdang, Selangor (Malaysia). Pag. 17-18.
- Chin, H. F.; Hor, Y. L. & Mohd, M. B. (1984). Identification of recalcitrant seeds. Department of Agronomy and Horticulture, University Pertanian Malaysia, Serdang, Selangor (Mlaysia). Seed science and Technology, pp 429-436.
- Ezumah, B. S. (1986). Germination and storage of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed. School of Biological Sciences, IMO State University (Nigeria). Seed Science & Technology, 14, 593-600.

- FAO. 1985. A guide to forest seed handling with special reference to the tropics. Compiled by R. L. William. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome (Italy). FAO forestry paper, 20/2, pp. 135-138.
- Galán, G. C. A. (1992). Establecimiento y manejo de plantaciones de nim y cosecha. Proyecto Insecticida Botánico. PIBN/CIEETS. Resumen de trabajo expuesto en el Primer Taller de Intercambio de Experiencias y Conocimientos sobre el cultivo del árbol nim en América Latina. Managua.
- Gómez, G. O. J., Minelli, M. 1990. La producción de semillas. Texto básico para el desarrollo del curso de producción de semillas en la Universidad de Nicaragua. Imprenta UCA. Instituto Superior de Ciencias Agropecuaria. Managua (Nicaragua). 210 pag.
- International Seed Testing Association. (ISTA). 1985. International rules for seed testing. Zurich (Suiza).
- King, M. W. and Roberts, H. 1979. The storage of recalcitrant seeds. Achievements and possible approaches. IBPGR Secretariat. Rome (Italy). 96 pag.
- Koul, O., Isman, M. B. and Ketkar, C. M. 1990. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. Department of Plant Science, University of British Columbia, Vancouver. Can. J. Bot. Pag. 68: 1-11.
- Maithani, G. P.; V. K. Bahuguna, M. M. S. Rawat and O. P. Sood. 1989. Fruit maturity and interrelated effects of temperature and container on longevity on neem (*Azadirachta indica*) seeds. Division of Silviculture, Forest Research Institute, (India). The Indian Forester, Vol. 115, N° 2, pp. 89-97.
- Maydell, H. J. von. 1989. Criteria for the selection of food producing trees and shrubs in semi arid regions. In: Selection of food producing trees and shrubs. 1989. (G. E. Wickens, N. Haq and P. Day eds). Chapman & Hall. London. Pag. 67-75.
- Moya, J. 1992. Establecimiento y manejo de plantaciones de nim. Instituto de Recursos Naturales y del Ambiente (IRENA). Resumen de trabajo expuesto en el Primer Taller de Intercambio de Experiencias y Conocimientos sobre el cultivo del árbol de nim en América Latina. Managua.

- National Research Council. 1992. Neem: A tree for solving global problems. National Academy Press, Washington, D. C. 141 pág.
- Nagaveni, H. C.; Ananthapadmanabha, H. S.; Rai, S. N. 1987. Note on the extension of viability of *Azadirachta indica*. Myforest (1987) 23 (4) 245. Sandal Research Centre, (India). Seed Abstract 1989, Vol. 12, N° 4. pp. 137.
- Omondi Oloo. W. 1995. Seed Ageing: Its Effects on Genetic Variability in Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Seed lot. Kenya Forestry Seed Centre. ISTA Symposium Abstracts, Copenhagen.
- Pammenter, N. W. ; Jill M. Farrant and Patricia Berjak. 1984. Recalcitrant Seeds: short-term storage effects in *Avicennia marina* (Forsk) Vierh may be germination-associated. Department of Biological Science, University of Natal (South Africa), Annals of Botany, 54, 843-846.
- Ponnuswamy, A. S ; R. S.Vinaya. ; Rai, C. Surendran and T. V. Karivaratharaju. 1991. Studies on maintaining seed longevity and the effect of fruit grades in neem (*Azadirachta indica*). Journal of Tropical Forest Science 3 (3): 285-290.
- Roberts, E. H. And M. W. King. 1980. The characteristics of recalcitrant seeds. In: Recalcitrant crop seeds. (H. F. Chin and E. H. Roberts eds.). Tropical Press SDN. BHD. Kuala Lumpur, Malaysia. Pág. 1-5.
- Roederer, Y. and R. Bellefontaine. 1989. Can neem seeds be expected to keep their germinative capacity for several years after collection? Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome. Forest Genetic Resources. Information N° 17, PP. 30-33.
- Teichman, I. von y A. E. von W y K. 1994. Structural aspects and trends in the evolution of recalcitrant seeds in dicotyledons. Departament of Botany, University of Pretoria (South Africa). Seed Science Research (1994) 4, 225-239.
- Wolf, H. (1933). Neem. Collection, Drying and Storage. Preliminary results. GTZ - Forestry Seed Centre Muguga. Kenya 8 pag.
- Zeledón, B. G. 1990. Perspectivas del aprovechamiento del árbol de nim *Azadirachta indica* A. Juss en las condiciones de Nicaragua. PLITS 1990/8 (2), 327-339.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabla 6. Comportamiento de la semilla de nim almacenada en tres tipos de empaques y siete condiciones de almacenamiento, en 1994

1 día				7días			14 días			28días			42 días			56 días			70 días			84 días			98 días			112 días			
Tratamiento	Via	Ger	Hum	Via	Ger	Hum	Ver	Ger	Hum	Via	Ger	Hum	Via	Ger	Hum	Via	Ger	Hum	Via	Ger	Hum	Via	Ger	Hum	Via	Ger	Hum	Via	Ger	Hum	
a1	A	100	80	38.2	99	92	20.9	96	92	16.4	100	88	11.1	100	88	9.3	98	84	8.8	97	83	7.8	96	81	7.9	91	80	7.8	87	76	7.5
	B	100	80	38.2	99	92	20.9	96	95	16.9	98	91	8.3	100	84	8.2	95	81	7.9	91	83	7.9	94	81	7.8	94	81	7.8	87	80	7.3
	C	100	80	38.2	99	92	20.9	97	93	14.8	100	82	8.8	100	84	8.6	96	85	8.3	95	82	8.4	96	82	8.2	88	80	8.1	86	76	8.2
	D	100	80	38.2	99	92	20.9	98	93	19.2	98	88	17.0	99	83	12.7	96	83	10.6	93	81	8.1	90	80	8.3	90	80	8.5	88	79	8.6
	E	100	80	38.2	99	92	20.9	99	93	17.0	100	81	10.0	100	86	9.5	95	85	10.1	93	83	10.3	92	82	9.7	85	78	9.9	82	72	9.5
	F	100	80	38.2	99	92	20.9	98	92	20.0	99	88	11.7	100	86	8.0	96	85	7.3	93	85	6.7	96	85	6.2	96	84	6.1	94	83	6.2
	G	100	80	38.2	99	92	20.9	100	84	21.0	98	75	13.6	96	74	12.8	73	68	11.5	63	54	9.6	69	43	10.3	31	23	10.1	32	26	9.7
a2	A	100	80	38.2	99	92	20.9	96	92	20.4	97	80	20.9	92	74	20.6	81	72	20.7	75	58	21.2	31	24	20.6	5	0	22.1	0	0	22.9
	B	100	80	38.2	99	92	20.9	94	90	20.7	100	82	20.1	97	75	20.8	87	78	20.4	87	71	20.9	77	47	19.5	77	45	20.1	36	27	18.4
	C	100	80	38.2	99	92	20.9	91	92	19.6	99	88	20.2	98	74	20.0	92	75	19.6	78	70	19.6	79	47	19.3	80	47	19.2	52	32	19.7
	D	100	80	38.2	99	92	20.9	95	91	20.6	100	88	21.2	100	82	21.7	95	82	21.1	72	45	21.1	73	41	20.5	71	46	19.5	30	24	20.1
	E	100	80	38.2	99	92	20.9	99	87	22.0	99	86	20.5	97	66	21.5	93	83	21.3	69	68	21.5	55	45	21.4	52	37	21.2	48	28	23.6
	F	100	80	38.2	99	92	20.9	95	93	20.7	100	88	20.6	97	79	20.6	91	78	20.9	81	70	19.9	84	55	19.9	74	51	19.5	50	36	20.0
	G	100	80	38.2	99	92	20.9	99	78	22.0	96	75	20.3	90	72	21.2	41	37	20.6	34	16	21.6	29	26	20.4	18	11	22.6	14	10	26.4
a3	A	100	80	38.2	99	92	20.9	99	89	20.6	99	80	20.0	92	66	21.5	10	6	21.0	0	0	21.1	0	0	22.3	0	0	20.8	0	0	20.0
	B	100	80	38.2	99	92	20.9	97	94	20.4	100	87	18.9	97	73	21.6	58	37	21.2	31	22	22.4	22	14	20.7	0	0	22.7	0	0	20.8
	C	100	80	38.2	99	92	20.9	95	94	22.4	100	78	20.3	96	71	22.4	20	17	22.5	18	10	22.6	0	0	20.8	0	0	21.5	0	0	22.0
	D	100	80	38.2	99	92	20.9	100	90	21.8	96	83	19.8	97	81	22.0	68	53	21.6	52	38	22.6	11	6	21.1	0	0	20.3	0	0	21.4
	E	100	80	38.2	99	92	20.9	98	86	21.4	100	83	19.8	98	73	21.3	33	26	20.7	27	21	21.9	0	0	21.3	0	0	20.7	0	0	23.1
	F	100	80	38.2	99	92	20.9	96	92	21.1	100	88	19.1	92	76	21.4	80	59	21.9	22	14	21.9	15	12	21.3	9	4	21.8	0	0	21.6
	G	100	80	38.2	99	92	20.9	98	73	20.9	96	84	20.5	89	56	21.3	67	49	21.3	39	28	21.4	32	19	21.2	0	0	19.8	0	0	22.9

a1: Bolsa de algodón; a2: Bolsa plástica; a3: Bolsa polilaminada; A: Laboratorio de semilla; B: Cámara de germinación 1; C: Cámara de germinación 2; D: Cámara de germinación 3; E: Pre-cámara; F: Cuarto de secado; G: Cuarto frío

Anexo 2

Tabla 7. Efecto de tres tipos de empaques y siete condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad, germinación y humedad de las semillas de nim almacenadas durante 112 días, en 1994

	Empaques			Condiciones de almacenamiento						
	a1	a2	a3	A	B	C	D	E	F	G
Viabilidad (%)	96.2 a	85.6 b	60.6 c	76.9 d	86.9 b	84.6 c	86.6 b	84.0 c	88.4 a	73.4e
Germinación (%)	82.5 a	66.0 b	42.2 c	57.9 c	68.6 a	65.7 b	68.7 a	65.6 b	71.1 a	52.6d
Humedad (%)	13.2 c	22.4 b	22.8 a	19.0 d	18.6 g	18.9 e	19.7 b	19.7 c	18.6 f	20.2a

Medias con la misma letra no tienen diferencia significativa ($P \leq 0.05$, según Tukey). C. V. (%): Viabilidad = 4.2; Germinación = 10.1; Humedad = 0.000003. a1: Bolsas de algodón; a2: Bolsas plásticas; a3: Bolsas polilaminadas. A: Laboratorio de semilla; B: Cámara de germinación 1; C: Cámara de germinación 2; D: Cámara de germinación 3; E: Pre-cámara; F: Cuarto de secado; G: Cuarto frío.

ANEXO 3

Tabla 8. Calidad de las semillas cosechadas a las 10 y 12 semanas después de la floración

	10 semanas	12 semanas	ANDEVA	C.V.(%)
Viabilidad (%)	100.0 a	94.0 b	*	2.3
Germinación (%)	65.0 b	82.0 a	*	11.5
Plántulas anormales (%)	9.0 a	3.0 b	*	60.3
Contenido de humedad (%)	51.5 a	39.5 b	*	0.0

Medias con la misma letras no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$, según Duncan)

ANEXO 4

Tabla 9. Daños mecánicos en las semillas

Localidad	Daño	Viabilidad (%)	Plántulas normales (%)	Contenido de humedad (%)
Sábana Grande	1	98.0 c	90.0 a	8.8 d
	2	100.0 a	21.0 c	10.1 b
	3	99.0 b	50.0 b	9.1 c
	4	99.0 b	33.0 bc	20.8 a
ANDEVA		*	*	*
C.V (%)		3.7	23.1	0.000001
Los Brasiles	1	100.0 a	74.0 a	7.9 d
	2	100.0 b	39.0 b	8.8 b
	3	99.0 b	68.0 a	8.2 c
	4	100.0 a	59.0 ab	18.9 a
ANDEVA		*	*	*
C.V (%)		2.5	21.8	0.0

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$, según Duncan) . 1: Sin un pedazo de endocarpio; 2: Endocarpio abierto; 3: Endocarpio quebrado; 4: Semillas sanas